

NOTE

**PREMIÈRE ÉTUDE CYTOGÉNÉTIQUE
DANS UN CENTRE ITALIEN
D'INSÉMINATION ARTIFICIELLE**

Annamaria de GIOVANNI, C. P. POPESCU* et G. SUCCI**
avec la collaboration technique de Jeannine BOSCHER*

*Istituto di Anatomia e Fisiologia degli Animali Domestici,
Facoltà di Agraria,
Via Celoria 2, Milano (Italie)*

* U. N. C. E. I. A. et Laboratoire de Génétique factorielle, I. N. R. A., C. N. R. Z.,
78350 Jouy en Josas (France)

** Istituto di Zootechnia Generale,
Facoltà di Agraria,
Via Celoria 2, Milano (Italie)

RÉSUMÉ

Une étude cytogénétique a été entreprise sur 39 taureaux d'un centre d'insémination artificielle en Italie. Aucune anomalie chromosomique de nombre ou de structure n'a été identifiée, mais un animal de race *Holstein Friesian* a été trouvé porteur d'un chimérisme XX/XY. Il présentait 52,38 p. 100 de cellules femelles, une fertilité réduite par rapport à la moyenne du centre et un sex-ratio modifié en faveur des femelles.

Le perfectionnement, durant la dernière décennie des techniques cytogénétiques, a permis d'examiner un grand nombre d'animaux et de découvrir plusieurs types d'anomalies chromosomiques chez les bovins.

Les anomalies de nombre connues à ce jour se limitent à quelques cas de trisomie impliquant les autosomes (HERZOG et HÖHN, 1968 ; HERZOG *et al.*, 1971 ; MORI *et al.*, 1969 ; DUNN et JOHNSON, 1972) ou les chromosomes sexuels (BASRUR *et al.*, 1964 et RIECK *et al.*, 1970). Les anomalies structurales sont, quant à elles, plus nombreuses, puisqu'on connaît déjà plusieurs types de translocations robertsoniennes (GUSTAVSSON, 1969 ; POLLOCK, 1972 ; BRUÈRE et CHAPMAN, 1973) en tandem (HANSEN, 1969) ou X/autosome (GUSTAVSSON *et al.*, 1968). Elles n'ont généralement pas d'effet phénotypique visible mais peuvent provoquer des perturbations à la méiose qui se tradui-

sent par des troubles de fertilité. En raison des risques de propagation d'une anomalie chromosomique par l'insémination artificielle actuellement généralisée dans cette espèce, il est indispensable de connaître le caryotype de tous les animaux reproducteurs.

L'objet de cette note est d'effectuer une première enquête cytogénétique dans le centre d'insémination artificielle de Zorlesco (Milano).

L'étude porte sur 39 animaux appartenant à cinq races différentes (tabl. 1). Les cultures de sang intégral ont été effectuées selon la technique de DE GROUCHY *et al.* (1964). Les métaphases ayant la meilleure dispersion ont été photographiées avec un dispositif Leitz-Orthomat sur une pellicule Kodak Microfil. Au total, 210 photos ont été faites dont 63 ont été utilisées pour obtenir des caryotypes.

TABLEAU I

Répartition par races des animaux étudiés

Race	Nombre d'animaux étudiés	Pays d'origine
<i>Frisonne</i>	19	Italie
	9	U.S.A.
	5	Canada
<i>Brune des Alpes</i>	2	Italie
<i>Piémontaise</i>	2	Italie
<i>Charolaise</i>	1	France
<i>Limousine</i>	1	France

Sur l'ensemble d'animaux étudiés par les méthodes courantes, aucune anomalie chromosomique de nombre ou de structure n'a été observée. Nous avons toutefois identifié un animal porteur d'un chimérisme leucocytaire 60 XX/60 XY (fig. 1) avec une fréquence de 52,38 p. 100 de cellules femelles sur 147 étudiées. Il s'agit d'un animal de race *Frisonne* d'origine américaine, vraisemblablement congénère d'un freemartin car déclaré né jumeau. Sa fertilité, exprimée par le taux de non retour à 60-90 jours, est de 57,81 p. 100 et 48,89 p. 100 sur respectivement 365 et 463 inséminations premières, durant les deux dernières années. Elle est inférieure à la fertilité moyenne du centre qui, elle, est de 62 p. 100. Sur 148 descendants connus de cet animal on compte 32 mâles et 116 femelles. Le χ^2 calculé pour comparer son sex-ratio au rapport 50/50 donne une différence hautement significative au seuil 1 pour 1 000.

Cette absence d'anomalies chromosomiques numériques et structurales pourrait s'expliquer par le fait que la plupart des animaux étudiés appartiennent à la race *Frisonne*, race dans laquelle les anomalies chromosomiques semblent avoir une fréquence peu élevée. En effet, sur plus d'un millier d'animaux de cette race étudiés aux U. S. A. (FECHHEIMER, 1973) en Grande-Bretagne (POLLOCK, 1974) et en France (POPESCU, 1975, en préparation) on n'a trouvé que deux cas de translocations robertsoniennes : une de type 2/4 (POLLOCK, 1974) et une de type 1/29 (HERSCHLER et FECHHEIMER, 1966).

Il semble par contre, que le chimérisme chromosomique XX/XY ait une fréquence relativement élevée dans tous les rameaux *Frisons* : 2 p. 100 environ de l'ensemble d'animaux mâles étudiés (tabl. 2).

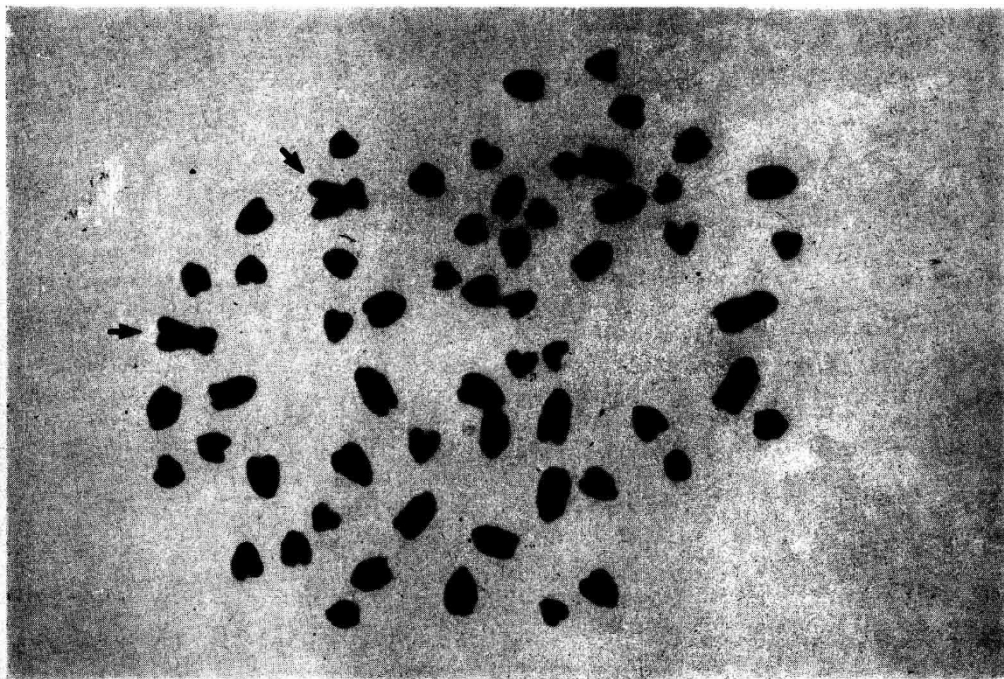


FIG. 1. — *Cellule femelle provenant de l'animal porteur du chimérisme XX/XY*
Les deux chromosomes X sont marqués par des flèches

TABLEAU 2

*Fréquence du chimérisme XX/XY parmi les animaux mâles
de race Frisonne d'origine différente*

Auteurs	Pays	Nombre d'animaux étudiés	Chimérisme XX/XY	Pourcentage
FECHHEIMER, 1973	U.S.A.	573	11	1,9
POLLOCK, 1974	Grande-Bretagne	330	7	2,1
POPESCU, 1975 (en préparation)	France	188	3	1,6
TOTAL		1091	21	1,9

Le chimérisme chromosomique XX/XY caractérise la condition de freemartinisme, phénomène d'intersexualité qui apparaît dans la plupart des naissances gemellaires hétérosexuelles.

Une première explication de ce phénomène a été donnée par LILLIE (1916, 1917) et KELLER et TANDLER (1916); elle consisterait en une modification des organes génitaux femelles sous l'influence d'une hormone testiculaire du jumeau mâle à travers les anastomoses placentaires. La découverte par OHNO *et al.* (1962) du chimérisme XX/XY chez les freemartins a fourni la base d'une nouvelle hypothèse. Ainsi FECHHEIMER (1963) et BOUTERS et VANDEPLASSCHE (1964) pensent que le freemartinisme est provoqué par un transfert des cellules entre les deux jumeaux, le chromosome Y étant considéré comme la cause majeure de la modification des gonades femelles. D'autres théories ont été formulées depuis, mais aucune n'est actuellement totalement acceptable.

Du point de vue zootechnique le problème du freemartinisme se pose différemment, selon le sexe considéré. Si la femelle freemartin est automatiquement éliminée de la reproduction parce que stérile, le congénère mâle, lui est généralement gardé et utilisé, même en insémination artificielle. A cause de l'absence de malformations phénotypiques, seule une analyse chromosomique peut révéler l'existence du chimérisme chez les mâles nés d'une naissance gemellaire.

Certains auteurs recommandent d'éliminer de la reproduction les mâles congénères des freemartins, soit en raison d'un taux anormalement bas de la testostérone et d'une hypoplasie de la vésicule séminale (SHORT *et al.*, 1969) soit en raison d'une mauvaise fertilité et de la qualité médiocre du sperme (STAFFORD, 1972).

Toutefois le sex-ratio dévié en faveur des femelles, trouvée par DUNN *et al.* (1969) et LODJA (1972) pourrait constituer un avantage zootechnique, bien qu'une confirmation sur un plus grand nombre de descendants de mâles porteurs du chimérisme XX/XY, soit nécessaire.

Reçu pour publication en août 1975.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le centre d'insémination artificielle (*Ente Lombardo per il Potenziamento zootecnico*) de Zorlesco (Milan) pour la collaboration accordée, qui nous a permis de réaliser cette étude.

SUMMARY

A FIRST CYTOGENETIC STUDY IN AN ITALIAN A.I. CENTRE

A study of 39 bulls from an Italian station for artificial insemination has been made. No chromosomal abnormality has been found. One *Holstein-Friesian* bull was found to have an XX/XY chimaerism. He had 52,38 p. 100 female cells, a low fertility in comparison with the mean fertility of this station and a deviation in the sex-ratio in favour of females.

RIASSUNTO

UN PRIMO STUDIO CITOGENETICO

IN UN CENTRO ITALIANO DI FECONDAZIONE ARTIFICIALE

Uno studio citogenetico è stato svolto su 39 tori di un Centro di Fecondazione artificiale italiano. Non sono state trovate anomalie cromosomiche né nel numero né nella struttura, mentre è stato possibile mettere in evidenza un chimerismo XX/XY in un toro di razza *Frisona pezzata nera* di ceppo U. S. A. Questo soggetto presentava una percentuale del 52,38 p. 100 di cellule femminili, una fertilità ridotta in rapporto alla media del centro ed una sex-ratio a favore del sesso femminile.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BASRUR P. K., GILMAN J. P. W., MCSHERRY B. J., 1964. Cytological observations on a bovine lymphosarcoma. *Nature*, **201**, 368.
- BOUTERS R., VANDEPLASSCHE H., 1964. The male sex chromosome as a possible cause of the development of freemartinism in cattle. Vlaam. *Diergences bunding Tijdschr*, **33**, 229-241.
- BRUERE A. N., CHAPMAN H. M., 1973. Autosomal translocation in two exotic breeds of cattle in New-Zealand. *Vet. Rec.*, **92**, 615.
- DE GROUCHY J., ROUBIN M., PASSAGE E., 1964. Microtechnique pour l'étude des chromosomes humains à partir d'une culture de leucocytes sanguins. *Ann. Génét.*, **7**, 45.
- DUNN H. O., KENNEY R. M., STONE W. H., BENDEL S., 1968. Cytogenetic and reproductive studies of XX/XY chimeric twin bulls. *VI^e Cong. Anim. Reprod.*, Paris, 1968, **2**, 877-879.
- DUNN H. O., JOHNSON R. H., 1972. A 61, XY cell line in a calf with extreme brachygnathia. *J. Dairy Sci.*, **55**, 524-526.
- FECHHEIMER N. S., HERSCHLER M. S., GILMORE L. O., 1963. Sex chromosome mosaicism in unlike sexed cattle twins. *XIth Int. Cong. Genet. The Hague*, 1963, **1**, 265. (Pergamon Press).
- FECHHEIMER N. S., 1973. A cytogenetic survey of young bulls in the U. S. A. *Vet. Rec.*, **93**, 535-536.
- GUSTAVSSON I., FRACCARO M., TIEPOLO L., LINDSTEN J., 1968. Presumptive X-autosome translocation in a cow. Preferential inactivation of the normal X chromosome. *Nature*, **218**, 183.
- GUSTAVSSON I., 1969. Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in swedish cattle. *Hereditas*, **63**, 68-169.
- HANSEN K. M., 1969. Bovine tandem fusion and infertility. *Hereditas*, **63**, 453.
- HERSCHLER M. S., FECHHEIMER N. S., 1966. Centric fusion of chromosomes in a set of bovine triplets. *Cytogenetics*, **5**, 307-312.
- HERZOG A., HÖHN H., 1968. Autosomale trisomie bei einem kalf mit Brachygnathie inferior und Ascites Congenitus. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, **75**, 604.
- HERZOG A., HÖHN H., 1971. Autosomale trisomie bei der letalen Brachygnathie des Rindes. *Cytogenetics*, **10**, 347-355.
- KELLER K., TANDLER J., 1916. The behaviour of the chorion in twin pregnancies of cattle. *Wien. Tierärztl. Monatsschr.*, **3**, 513.
- LILLIE F. R., 1916. The theory of the Freemartin. *Science*, **43**, 611.
- LILLIE F. R., 1917. The freemartin ; a study of the action of sex hormones in the foetal life of cattle. *J. Exp. Zool.*, **23**, 371-452.
- LOJDA L., 1972. Chromosomal chimerisme of the sire as a cause of the shift in sex ratio in his offspring. *VII^e Congr. int. reprod. anim. insémin. artif.*, Munich, juin 1972, IIII-III3.
- MORI M., SASAKI M., ISHIKAWA T., KAWATA K., 1969. Autosomal trisomy in a malformed new born calf. *Proc. Japan Acad.*, **45**, 955.
- OHNO S., TRUSSILLO J. M., STENIUS C., CHRISTIAN L. C., TEPLITZ R. L., 1962. Possible germ cell chimeras among newborn dizygotic twin calves (*Bos taurus*). *Cytogenetics*, **1**, 258.
- POLLOCK D. L., 1972. A chromosome abnormality in *Friesian* cattle in Great Britain. *Vet. Rec.*, **90**, 309.
- POLLOCK D. L., 1974. Chromosome studies in artificial insemination sires in Great Britain. *Vet. Rec.*, **95**, 266-267.
- RIECK G. W., HÖHN H., HERZOG A., 1970. X trisomie beim Rind mit Anzeichen familiärer Disposition für Meioses-törungen. *Cytogenetics*, **9**, 401.
- SHORT R. V., 1969. An introduction to some of the problems of intersexuality. *J. Reprod. Fert. suppl.*, **7**, 1-8.
- STAFFORD M. Y., 1972. The fertility of bull born co-twin to heifer. *Vet. Rec.*, **90**, 146-148.